

# 八角和杜仲叶提取物对断奶仔猪生长性能、血清酶活性及肝脏肿瘤坏死因子- $\alpha$ 分布和表达的影响

陈 鹏 杨在宾 黄丽波 丁 晓 姜淑贞\*

(山东农业大学动物科技学院, 泰安 271018)

**摘 要:** 本试验旨在研究饲料中添加八角和杜仲叶提取物对断奶仔猪生长性能、血清酶活性及肝脏肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 分布和表达的影响。采用单因子试验设计, 选择健康的“杜×长×大”断奶仔猪 48 头, 随机分为 4 个组, 每组 3 个重复, 每个重复 4 头猪。对照组饲喂基础饲料, 试验组在基础饲料的基础上分别添加八角提取物 (500 mg/kg)、杜仲叶提取物 (250 mg/kg) 和金霉素 (50 mg/kg)。预试期 7 d, 正试期 42 d。结果表明: 与对照组相比, 饲料中添加八角提取物、杜仲叶提取物和金霉素显著提高了断奶仔猪平均日增重 ( $P<0.05$ ), 饲料中添加八角和杜仲叶提取物显著降低了血清谷丙转氨酶、碱性磷酸酶活性和肝脏 TNF- $\alpha$  mRNA 相对表达量 ( $P<0.05$ )。TNF- $\alpha$  免疫阳性结果主要见于肝脏的肝小叶间及肝血窦。由此可见, 在饲料中添加八角、杜仲叶提取物可提高断奶仔猪生长性能, 并具有抵抗肝脏炎症反应及氧化应激的能力。

**关键词:** 八角提取物; 杜仲叶提取物; 断奶仔猪; 生长性能; 血清酶

**中图分类号:** S828

近年来, 在对肉产品安全高度关注、实现畜牧业可持续发展以及抗生素负面作用的影响下, 开发“安全、高效、稳定、可控”的新型饲料添加剂成为国内外研究的热点。植物提取物以其安全、高效、无残留、不产生抗药性等优点, 在畜牧生产中被广泛应用, 成为一种新型绿色抗生素替代品<sup>[1-2]</sup>。植物提取物不仅具有抗菌<sup>[3]</sup>、抗氧化<sup>[4]</sup>的功效, 还具有提高动物机

收稿日期: 2016-09-02

基金项目: 公益性行业 (农业) 科研专项; 饲料中抗生素替代品关键研究与示范 (201403047); 山东省现代农业产业技术体系生猪营养专项资金 (SDAIT-08-04)

作者简介: 陈 鹏 (1990—), 男, 山东德州人, 硕士研究生, 从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: chenpeng0757@qq.com

\*通信作者: 姜淑贞, 副教授, 硕士生导师, E-mail: shuzhen305@163.com

体免疫力<sup>[5]</sup>、促进生长<sup>[6]</sup>、改善肠道微生物环境<sup>[7]</sup>、提高肉品质<sup>[8]</sup>等作用。八角和杜仲具有多种生物学功能，且在我国资源丰富。体外试验表明，八角和杜仲叶提取物在抗菌<sup>[9-10]</sup>、抗氧化<sup>[11-12]</sup>和提高免疫力<sup>[13-14]</sup>方面具有显著效果。但是，八角和杜仲叶提取物对不同品种断奶仔猪肝脏因子核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)和肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 分布和表达的影响尚未见报道。因此，本试验旨在探讨八角和杜仲叶提取物对断奶仔猪生长性能、血清酶活性、肝脏 TNF- $\alpha$  分布和表达的影响，为八角和杜仲叶提取物在畜牧生产中的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

八角提取物：山东农业大学动物营养研究实验室提取，提取方法为乙醇提取法。主要成分：反式茴香脑 $\geq 55.50\%$ ，草蒿脑 $\geq 6.17\%$ ，茴香醛 $\geq 4.56\%$ 。

杜仲叶提取物：山东龙昌动物保健品有限公司提供。主要成分：杜仲多糖 $\geq 20.00\%$ ，黄酮 $\geq 8.00\%$ ，绿原酸 $\geq 5.00\%$ 。

抗生素：金霉素，山东雨泽银丰动物药业有限公司提供。

1.2 试验设计

采用单因子试验设计，选取 28 日龄“杜 $\times$ 长 $\times$ 大”断奶仔猪 48 头，随机分为 4 个组，每组 3 个重复，每个重复 4 头猪，组间体重差异不显著 ( $P>0.05$ )。基础饲粮参考我国《猪饲养标准》<sup>[15]</sup>配制，基础饲粮组成及营养水平见表 1。对照组饲喂基础饲粮，试验组在基础饲粮中分别添加 500 mg/kg 八角提取物(八角组)、250 mg/kg 杜仲叶提取物(杜仲组)和 50 mg/kg 金霉素(抗生素组)。试验预试期 7 d，正试期 42 d，仔猪自由采食和饮水。

表 1 基础饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %		
项目	Items	含量 Content
原料 Ingredients		
玉米	Corn	58.20

次粉 Wheat middling	10.00
豆粕 Soybean meal	17.50
干酒糟及其可溶物 DDGS	8.00
豆油 Soybean oil	1.30
预混料 Premix <sup>1)</sup>	5.00
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels <sup>2)</sup>	
消化能 DE/(MJ/kg)	13.65
粗蛋白质 CP	15.91
钙 Ca	0.77
有效磷 AP	0.33
赖氨酸 Lys	1.01
蛋氨酸 Met	0.29
蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.61
苏氨酸 Thr	0.65
色氨酸 Try	0.18

<sup>1)</sup>预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of the diet: VA 3 300 IU, VD<sub>3</sub> 330 IU, VE 24 IU, VK 2.00 mg, VB<sub>1</sub> 0.75 mg, VB<sub>2</sub> 5.25 mg, VB<sub>6</sub> 2.25 mg, VB<sub>12</sub> 0.026 mg, D-泛酸 D-pantothenic acid 15.00 mg, 生物素 biotin 0.075 mg, 叶酸 folic acid 0.45 mg, 尼克酸 niacin 22.50 mg, Cu (CuSO<sub>4</sub> 5H<sub>2</sub>O) 9.00 mg, Zn (ZnSO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O) 150 mg, Se (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>) 0.45 mg, I (KI) 0.21 mg, Mn (MnSO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O) 6.00 mg, Fe (FeSO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O) 150 mg。

<sup>2)</sup>粗蛋白质为实测值，其他营养水平为计算值。CP was a measured value, while the others nutrient levels were calculated values.

1.3 检测指标

1.3.1 生长性能

每天记录各组断奶仔猪采食量，每周称量各组断奶仔猪体重，计算平均日采食量（ADFI）、平均日增重（ADG）和料重比（F/G）。

1.3.2 血液的采集、处理与血清酶活性的测定

于试验第 43 天晨饲前，每个重复随机选取断奶仔猪 1 头，使用真空促凝管采集血液 15

mL。37 °C 水浴静置 10 min，3 000 r/min 下离心 10 min，分离血清，-20 °C 保存待测，采用全自动生化分析仪（COBAS MIRA Plus，瑞士罗士公司）测定血清中谷丙转氨酶（ALT）、谷草转氨酶（AST）和碱性磷酸酶（ALP）活性。

### 1.3.3 仔猪屠宰与样品采集

采血完毕后，仔猪电击致死，放血后打开胸腔和腹腔，无菌剥离肝脏，并迅速切取一份肝脏组织置于 Bouin's 液中固定；另取一份肝脏组织置于冻存管中，-80 °C 液氮保存。

### 1.3.4 免疫组化[链霉亲合素-生物素复合物（strept avidin-biotin complex, SABC）法]

取 Bouin's 液中固定好的组织块，用乙醇逐级脱水，二甲苯透明，采用 BMJ23 型包埋机包埋。1) 切片机（LEICA RM2135，德国徕卡公司）进行切片（5 μm），常规脱蜡至水。2) 柠檬酸缓冲液（0.01 mol/L，pH 6.0）进行抗原热修复，磷酸盐缓冲液（PBS）（0.01 mol/L，pH 7.2）洗 3 次，5 min/次（下同）。3) 3%过氧化氢（H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>）室温避光孵育 30 min，用以阻断内源性过氧化物酶，PBS 洗 3 次。4) 10%胎牛血清 37 °C 封闭孵育 1 h。5) 分别加一抗兔抗 TNF-α（1:50）多克隆抗体（bs-0078R，北京博奥森生物技术有限公司），4 °C 孵育过夜，PBS 洗 3 次。6) 加生物素化羊抗兔免疫球蛋白 G（1:50）二抗（bs-0295Gs，北京博奥森生物技术有限公司），37 °C 恒温箱中孵育 1 h，PBS 洗 3 次。7) 加辣根过氧化物酶-链霉素亲和素（1:100），37 °C 孵育 45 min，PBS 洗 3 次。8) 二氨基联苯胺（DAB）显色，显微镜下观察显色程度，控制显色时间。9) 苏木素复染、脱水、透明、封片，在显微镜下观察免疫阳性细胞分布规律。

### 1.3.5 *TNF-α* mRNA 相对表达量的测定

取出-80 °C 保存的肝脏样品 50~100 mg，按照 Trizol 试剂盒说明书（Invitrogen 公司，美国）提取总 RNA，利用紫外分光光度计检测 RNA 的质量和浓度，结果显示吸光度（OD）值均在 1.8~2.0 之间。检测后的总 RNA 立即进行反转录。反转录按照 PrimeScript<sup>®</sup> RT Master Mix Perfect Real Time 试剂盒说明书进行操作。荧光定量 PCR 的反应体系为 20 μL，其扩增

条件均为 95 ℃预变性 30 s，95 ℃变性 5 s，60 ℃退火延伸 34 s，95 ℃ 15 s，60 ℃ 60 s，40 个循环，60 ℃检测荧光信号。每个样品做 3 个重复，荧光定量 PCR 检测结果用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  进行数据处理，分析肝脏中的 *TNF-α* mRNA 相对表达量。

表 2 引物序列

Table 2 Primers sequences			
基因	登录号	引物序列	产物大小
Genes	Accession No.	Primer sequences (5' —3')	Production length/bp
甘油醛-3-磷酸脱氢酶 <i>GAPDH</i>	NM_001206359.1	F: GAAGGTCGGAGTGAACGCAT	149
		R: CCTGGGTCGAATCATACTGGAACA	
肿瘤坏死因子-α <i>TNF-α</i>	NM_214022.1	F: CGTGAAGCTGAAAGACAACCAG	162
		R: GATGGTGTGAGTGAGGAAAACG	

1.4 数据处理

试验数据使用 SAS 9.3 软件进行统计。处理和仔猪品种间差异采用双因素方差分析 (double factor variance analysis) 进行统计分析, 各平均值之间用 Duncan 氏法进行多重比较。试验数据用平均值和 SEM 表示,  $P<0.05$  表示差异显著。

2 结 果

2.1 八角和杜仲叶提取物对断奶仔猪生长性能的影响

由表 3 可见, 与对照组相比, 八角组、杜仲组和抗生素组断奶仔猪平均日采食量没有显著差异 ( $P>0.05$ ), 八角组、杜仲组和抗生素组断奶仔猪平均日增重显著提高 ( $P<0.05$ )。各组间断奶仔猪料重比差异不显著 ( $P>0.05$ ), 但八角组和抗生素组有降低的趋势。

表 3 八角和杜仲叶提取物对断奶仔猪生长性能的影响

Table 3 Effects of *Illicium verum* and *Eucommia* leaf extracts on growth performance of weaned piglets

项目	平均日增重	平均日采食量	料重比
Items	ADG/(kg/d)	ADFI/(kg/d)	F/G
对照组 Control group	0.52 <sup>b</sup>	1.11	2.11
八角组 <i>Illicium verum</i> group	0.59 <sup>a</sup>	1.17	1.98
杜仲组 <i>Eucommia</i> group	0.58 <sup>a</sup>	1.23	2.12
抗生素组 Antibiotics group	0.58 <sup>a</sup>	1.15	1.98
SEM	0.047	0.160	0.183
<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	0.041	0.101	0.087

同列数据肩标不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ), 相同或无字母表示差异不显著 ( $P>0.05$ )。下表同。

In the same column, values with different small letter superscripts mean significant difference ( $P<0.05$ ), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference ( $P>0.05$ ). The same as below.

2.2 八角和杜仲叶提取物对断奶仔猪血清酶活性的影响

由表 4 可见, 八角组和杜仲组血清谷丙转氨酶活性显著低于对照组和抗生素组 ( $P<0.05$ )。各组间血清谷草转氨酶活性差异不显著 ( $P>0.05$ )。与对照组相比, 八角组、杜仲组和抗生素组血清碱性磷酸酶活性显著降低 ( $P<0.05$ )。

表 4 八角和杜仲叶提取物对断奶仔猪血清酶活性的影响

Table 4 Effects of *Illicium verum* and *Eucommia* leaf extracts on serum enzyme activity of

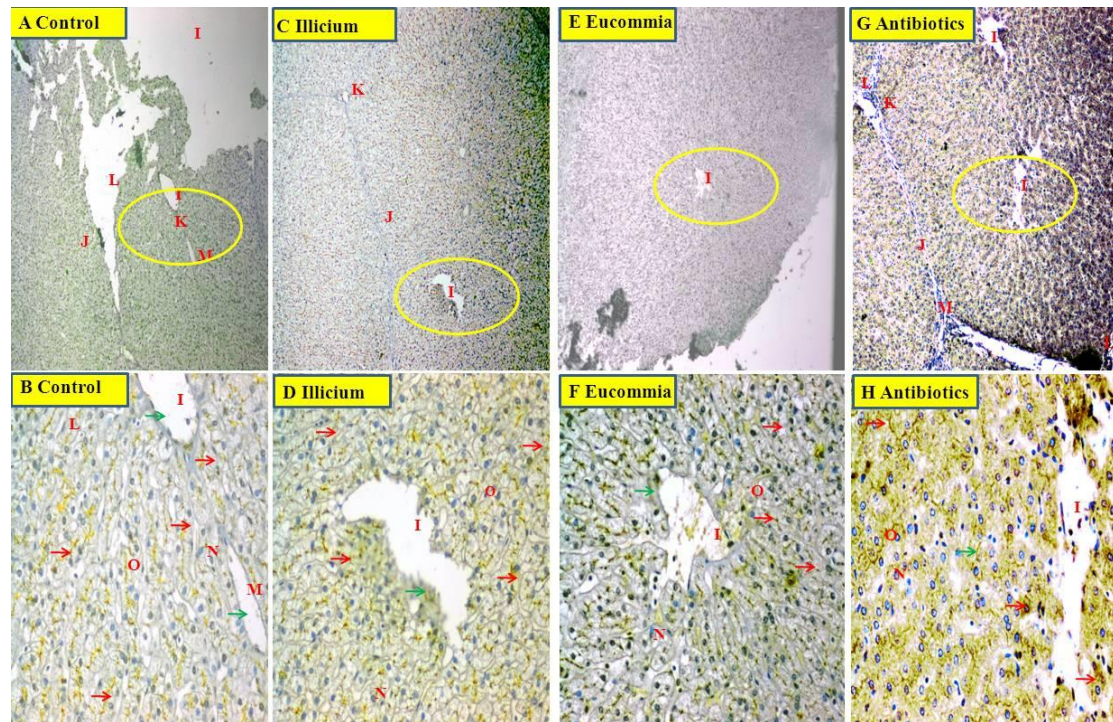
weaned piglets U/L			
项目	谷丙转氨酶	谷草转氨酶	碱性磷酸酶
Items	ALT	AST	ALP
对照组 Control group	23.55 <sup>a</sup>	17.45	94.47 <sup>a</sup>
八角组 <i>Illicium verum</i> group	18.06 <sup>b</sup>	17.88	84.35 <sup>b</sup>
杜仲组 <i>Eucommia</i> group	19.11 <sup>b</sup>	18.43	82.01 <sup>b</sup>
抗生素组 Antibiotics group	24.24 <sup>a</sup>	18.96	85.73 <sup>b</sup>
SEM	1.101	1.027	4.004
<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	0.021	0.107	0.009

2.3 八角和杜仲叶提取物对断奶仔猪肝脏中 TNF-α 分布的影响



免疫组化结果显示, 断奶仔猪肝脏中  $\text{TNF-}\alpha$  免疫阳性反应为黄色、棕黄色或棕色, 阴性不着色, 说明本试验采用的免疫组化 SABC 法具有免疫反应的特异性。

由图 1 可见,  $\text{TNF-}\alpha$  在肝小叶中阳性结果较强, 分布较均匀。根据颜色深浅和阳性分布可以看出, 抗生素组  $\text{TNF-}\alpha$  免疫阳性反应最强, 主要在肝细胞胞质中分布; 其他组阳性强弱依次为对照组、八角组和杜仲组, 主要在肝血窦内皮和肝细胞膜中分布。



A、C、E、G 为低倍图, B、D、F、H 为高倍图。I 为中央静脉, J 为小叶间结缔组织, K 小叶间动脉, L 为小叶间胆管, M 为小叶间静脉, N 为肝细胞, O 为肝血窦。红色箭头表示  $\text{TNF-}\alpha$  阳性细胞, 绿色箭头表示  $\text{TNF-}\alpha$  阴性细胞。Control: 对照组; Illicium: 八角组; Eucommia: 杜仲组; Antibiotics: 抗生素组。

A, C, E and G were macroscopic pictures. B, D, F and H were microscopic pictures. I was central vein, J was interlobular connective tissue, K was interlobular artery, L was interlobular bile duct, M was interlobular vein, N was liver cells, O was hepatic sinusoid. Red arrows showed immune-active cells of  $\text{TNF-}\alpha$ , and green arrows showed immune-negative cells of  $\text{TNF-}\alpha$ .

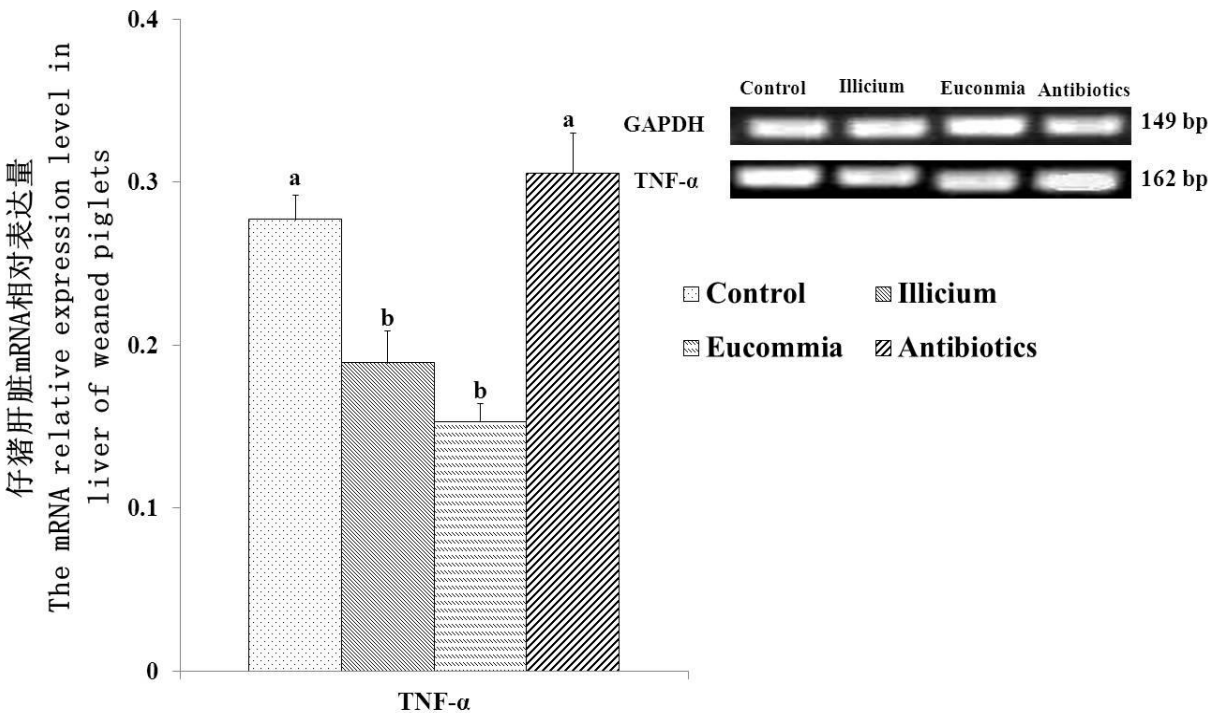
Control: control group; Illicium: *Illicium verum* group; Eucommia: *Eucommia* group; Antibiotics: antibiotics group.

图 1 八角和杜仲叶提取物对断奶仔猪肝脏 TNF-α 分布的影响

Fig.1 Effects of *Illicium verum* and *Eucommia* leaf extracts on liver TNF-α distribution of weaned piglets

2.4 八角和杜仲叶提取物对断奶仔猪肝脏中 TNF-α mRNA 表达的影响

由图 2 可见，与对照组相比，八角组和杜仲组断奶仔猪肝脏中 TNF-α mRNA 的相对表达量显著降低 ( $P<0.05$ )，而抗生素组断奶仔猪肝脏中 TNF-α mRNA 的相对表达量则差异不用显著 ( $P>0.05$ )。



柱标不同小写字母者差异显著 ( $P<0.05$ )。

Value columns with difference small mean significant difference ( $P<0.05$ ).

图 3 八角和杜仲叶提取物对断奶仔猪肝脏中 TNF-α mRNA 相对表达量的影响。



Fig.3 Effects of *Illicium verum* and *Eucommia* leaf extracts on liver *TNF- $\alpha$*  mRNA relative expression level of weaned piglets

### 3 讨论

#### 3.1 八角和杜仲叶提取物对断奶仔猪生长性能的影响

宋振帅<sup>[16]</sup>研究表明,八角粉(10 g/kg)对育肥猪平均日增重和平均日采食量没显著影响,但可提高其饲料转化率。李晓梅等<sup>[17]</sup>研究报道,在饲粮中添加一定量的杜仲(250 mg/kg)有利于提高平均日增重和饲料转化率。本试验中,饲粮中添加八角(500 mg/kg)和杜仲叶提取物(250 mg/kg)提高了断奶仔猪生长性能(平均日增重提高)。八角和杜仲叶提取物具有抗菌消炎<sup>[18-20]</sup>的作用,通过抑制有害病菌与机体竞争营养物质,提高机体中营养物质的消化和吸收<sup>[21]</sup>,这可能是八角和杜仲叶提取物提高生长性能的原因之一。八角和杜仲叶提取物中含有增强抗胆碱酯酶(AchE)的成分,通过其抗AchE的作用,兴奋了胃肠道平滑肌,进一步促进胃肠蠕动及胃液分泌<sup>[22-23]</sup>,这可能是八角和杜仲叶提取物提高生长性能的另一个原因。但是,八角和杜仲叶提取物提高生长性能的分子机制尚需进一步证实。

#### 3.2 八角和杜仲叶提取物对断奶仔猪血清酶活性的影响

肝脏是动物体内重要的免疫器官,具有解毒和造血的功能。肝脏受到疾病损伤导致的炎症反应或药酶诱导剂的作用可以诱导肝细胞内酶分泌增加,因此,血清中谷丙转氨酶、谷草转氨酶和碱性磷酸酶活性高低可以作为肝功能状况和应激反应的一个标志<sup>[24-25]</sup>。血清中谷丙转氨酶参与谷氨酸与丙酮酸之间的转氨作用,谷草转氨酶催化谷氨酸与草酰乙酸之间的转氨作用<sup>[26]</sup>。谷丙转氨酶和谷草转氨酶可以通过脱氨基和转氨基过程合成多种氨基酸,促进机体的蛋白质合成能力,其活性高低反映了蛋白质合成和分解的代谢状况,与仔猪平均日增重呈正相关<sup>[27]</sup>。血清碱性磷酸酶在骨骼形成的过程中起着重要作用<sup>[28]</sup>,同时参与脂肪和蛋白质代谢。王定发等<sup>[29]</sup>研究表明,假蒟提取物(50 mg/kg)可降低血清谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性。刘合军等<sup>[30]</sup>研究表明,刺五加提取物(1 000 mg/kg)可降低血清碱性磷酸酶活性。

本试验中,八角和杜仲组血清谷丙转氨酶和碱性磷酸酶活性均低于对照组,这与以上研究结果一致,说明八角和杜仲叶提取物具有保肝护胆、减轻炎症反应的作用。但是,八角和杜仲叶提取物调控血清中谷丙转氨酶、谷草转氨酶和碱性磷酸酶活性的细胞学机制尚需进一步证实。

### 3.3 八角和杜仲叶提取物对断奶仔猪肝脏中 $TNF-\alpha$ 分布和表达的影响

肿瘤坏死因子是一类重要的炎症调控因子,它不仅能诱导自身释放超氧阴离子、一氧化氮(NO),也会诱导其他炎性细胞因子[如白细胞介素-6(IL-6)和白细胞介素-8(IL-8)]的释放,进而参与疾病的发生、发展<sup>[31-32]</sup>。许腊梅等<sup>[33]</sup>对大鼠肝脏中  $TNF-\alpha$  研究显示,  $TNF-\alpha$  阳性结果主要分布于肝细胞质中,部分分布于单核细胞和少数汇管区。与本研究结果基本一致。在很多炎症反应过程中,  $TNF-\alpha$  mRNA 的相对表达量均显著性上升<sup>[34-35]</sup>。本试验研究表明,抗生素组  $TNF-\alpha$  mRNA 的相对表达量最高,说明抗生素对肝脏有一定的损伤。杜仲组  $TNF-\alpha$  mRNA 的相对表达量最低,说明杜仲叶提取物具有抗炎作用,其原因可能与杜仲叶提取物中绿原酸成分有关,绿原酸能够抑制核转录因子  $\kappa B(NF-\kappa B)$ 和 Toll 样受体 4 (TLR4) 2 个信号转导通路的激活,从而对  $TNF-\alpha$ 、白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 和 IL-6 炎性细胞因子的表达起到抑制作用<sup>[36]</sup>。本研究中  $TNF-\alpha$  在肝脏中的分布与表达结果一致,但是,八角和杜仲叶提取物中哪种成分起主导作用,其影响  $TNF-\alpha$  的分布与表达的分子机制尚需进一步研究。

## 4 结 论

- ① 饲料中添加八角和杜仲叶提取物提高了断奶仔猪平均日增重。
- ② 饲料中添加八角和杜仲叶提取物降低了血清谷丙转氨酶和碱性磷酸酶的活性。
- ③ 饲料中添加八角和杜仲叶提取物降低了肝脏  $TNF-\alpha$  mRNA 的相对表达量。

参考文献:

[1] WINDISCH W,SCHEDLE K,PLITZNER C,et al.Use of phytogetic products as feed additives

- for swine and poultry[J].Journal of Animal Science,2008,86(14S):E140–E148.
- [2] BRENES A,ROURA E.Essential oils in poultry nutrition:main effects and modes of action[J].Animal Feed Science and Technology,2010,158(1/2):1–14.
- [3] RAHIMI S,TEYMORI ZADEH Z,TORSHIZI M A K,et al.Effect of the three herbal extracts on growth performance,immune system,blood factors and intestinal selected bacterial population in broiler chickens[J].Journal of Agricultural Science and Technology,2011,13(4):527–539.
- [4] MILOS M,MASTELIC J,JERKOVIC I.Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (*Origanum vulgare* L.ssp.*hirtum*)[J].Food Chemistry,2000,71(1):79–83.
- [5] WANG J L,SHAN A S,LIU T Y,et al.*In vitro* immunomodulatory effects of an oleanolic acid-enriched extract of *Ligustrum lucidum* fruit (*Ligustrum lucidum* supercritical CO<sub>2</sub> extract) on piglet immunocytes[J].International Immunopharmacology,2012,14(4):758–763.
- [6] LI S Y,RU Y J,LIU M,et al.The effect of essential oils on performance,immunity and gut microbial population in weaner pigs[J].Livestock Science,2012,145(1/2/3):119–123.
- [7] AHMED S T,HOSSAIN M E,KIM G M,et al.Effects of resveratrol and essential oils on growth performance,immunity,digestibility and fecal microbial shedding in challenged piglets[J].Asian-Australasian Journal of Animal Sciences,2013,26(5):683–690.
- [8] HONG J C,STEINER T,AUFY A,et al.Effects of supplemental essential oil on growth performance,lipid metabolites and immunity,intestinal characteristics,microbiota and carcass traits in broilers[J].Livestock Science,2012,144(3):253–262.
- [9] 吴周和,徐燕,吴传茂.八角中天然防腐剂的提取方法及其抑菌作用研究[J].中国调味品,2003(9):18–20,47.

- [10] JI Z P, SU Y Q. Study on antimicrobial activities of extracts from *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2008, 28(1): 63–66.
- [11] PADMASHREE A, ROOPA N, SEMWAL A D, et al. Star-anise (*Illicium verum*) and black caraway (*Carum nigrum*) as natural antioxidants[J]. Food Chemistry, 2007, 104(1): 59–66.
- [12] 向灿辉, 邓镇涛, 王文君, 等. 杜仲叶提取物抗氧化作用与总黄酮含量的相关性研究[J]. 食品工业, 2012(8): 1–5.
- [13] 杨栋林. 八角茴香提取液对运动小鼠免疫功能的影响[D]. 硕士学位论文. 桂林: 广西师范大学, 2007.
- [14] YANG G, KYOUNG SEO E, LEE J H, et al. Suppression of splenic lymphocyte proliferation by *Eucommia ulmoides* and genipin[J]. Chemistry & Biodiversity, 2015, 12(4): 538–546.
- [15] 中华人民共和国农业部. NY/T 65-2004 猪饲养标准[S]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [16] 宋振帅. 八角、丹参和生姜对生长育肥猪及其饲料作用效果研究[D]. 硕士学位论文. 泰安: 山东农业大学, 2014.
- [17] 李晓梅, 曹爱智. 杜仲叶提取物(幸福 100)对仔猪生长性能、免疫功能和抗氧化功能的影响[J]. 中国饲料添加剂, 2013(7): 22–25.
- [18] YANG J F, YANG C H, CHANG H W, et al. Chemical composition and antibacterial activities of *Illicium verum* against antibiotic-resistant pathogens[J]. Journal of Medicinal Food, 2010, 13(5): 1254–1262.
- [19] ALY S E, SABRY B A, SHNHEEN M S, et al. Assessment of antimycotoxigenic and antioxidant activity of star anise (*Illicium verum*) *in vitro*[J]. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 2016, 15(1): 20–27.
- [20] SU Y Q, ZHU H W, MA X H, et al. Screening of antibacterial activities of endophytic fungi isolated from *Eucommia ulmoides*[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia

Sinica,2005,25(6):1153–1157.

- [21] RANUCCI D,BEGHELLI D,TRABALZA-MARINUCCI M,et al.Dietary effects of a mix derived from *oregano* (*Origanum vulgare* L.) essential oil and *sweet chestnut* (*Castanea sativa* Mill.) wood extract on pig performance,oxidative status and pork quality traits[J].Meat Science,2015,100:319–326.
- [22] BHADRA S,MUKHERJEE P K,KUMAR N S,et al.Anticholinesterase activity of standardized extract of *Illicium verum* Hook. f. fruits[J].Fitoterapia,2011,82(3):342–346.
- [23] KWON S H,LEE H K,KIM J A,et al.NeuroProtective effects of *Eucommia ulmoides* Oliv. bark on amyloid beta<sub>25-35</sub>-induced learning and memory impairments in mice[J].Neuroscience Letters,2011,487(1):123–127.
- [24] MANEN C A,COSTA M,SIPES I G,et al.Further evidence of cyclic amp-mediated hypertrophy as a prerequisite of drug-specific enzyme induction[J].Biochemical Pharmacology,1978,27(2):219–224.
- [25] CHENG W H,VALENTINE B A,LEI X G.High levels of dietary vitamin E do not replace cellular glutathione peroxidase in protecting mice from acute oxidative stress[J].The Journal of Nutrition,1999,129(11):1951–1957.
- [26] 高海霞.中草药添加剂对香猪生长性能、肉品质及血液生化指标的影响[D].硕士学位论文.兰州:甘肃农业大学,2010.
- [27] BOZA J J,TURINI M,MOËNNOE D,et al.Effect of glutamine supplementation of the diet on tissue protein synthesis rate of glucocorticoid-treated rats[J].Nutrition,2001,17(1):35–40.
- [28] 王石.谷朊粉酶解物对断奶仔猪生长性能、免疫功能和小肠发育的影响[D].硕士学位论文.郑州:河南工业大学,2011.
- [29] 王定发,周璐丽,周雄,等.假蒟提取物对断奶仔猪生长性能、血液指标的影响[J].动物营养

学报,2015,27(10):3233–3240.

- [30] 刘合军,孔祥峰,尹富贵,等.刺五加提取物对早期断奶仔猪生长性能和血清生化参数的影响[J].天然产物研究与开发,2006,18(6):993–998.
- [31] WILLIMAS L M,LALI F,WILLETTS K,et al.Rac mediates TNF-induced cytokine production via modulation of NF- $\kappa$ B[J].Molecular Immunology,2008,45(9):2446–2454.
- [32] LIN W W,KARIN M.A cytokine-mediated link between innate immunity,inflammation,and cancer[J].Journal of Clinical Investigation,2007,117(5):1175–1183.
- [33] 许腊梅,孙丹莉,张予蜀,等.紧密连接蛋白 Occludin 在非酒精性脂肪肝大鼠肠上皮细胞中的表达及其与 TNF- $\alpha$  的关系[J].世界华人消化杂志,2010,18(10):981–986.
- [34] CHU X,SONG K J,XU K,et al.Ceftiofur attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury[J].International Immunopharmacology,2010,10(5):600–604.
- [35] DING X M,DUAN Y Y,PENG C S,et al.Dexamethasone treatment attenuates early seawater instillation-induced acute lung injury in rabbits[J].Pharmacological Research,2006,53(4):372–379.
- [36] 高瑞峰.绿原酸抗乳腺炎作用及机制研究[D].博士学位论文.长春:吉林大学,2014.

Effects of *Illicium verum* and *Eucommia* Leaf Extracts on Growth Performance, Serum Enzyme Activity and Distribution and Expression of Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  in Liver of Weaned Piglets

CHEN Peng YANG Zaibin HUANG Libo DING Xiao JIANG Shuzhen\*

(College of Animal Science and Technology, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

Abstract: The aims of the study were to investigate the effects of *Illicium verum* and *Eucommia* leaf extracts on growth performance, serum enzyme activity and distribution and expression of



tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in liver of weaned piglets. The single factorial experimental design was adopted in this experiment. Forty-eight healthy weaned piglets (Duroc×Large White×Landrace) were randomly allocated into 4 groups with 3 replicates per group and 4 piglets per replicate. Piglets in the control group were fed a basal diet, and the others were fed basal diets supplemented with *Illicium verum* extract (500 mg/kg), *Eucommia* leaf extract (250 mg/kg) and aureomycin (50 mg/kg), respectively. The trial lasted for 42 days after 7 days adaptation. The results showed that compared with the control group, dietary supplemented with *Illicium verum* extract, *Eucommia leaf* extract and aureomycin significantly increased the average daily gain of weaned piglets ( $P<0.05$ ), dietary supplemented with *Illicium verum* and *Eucommia leaf* extracts significantly reduced the activities of glutamic-pyruvic transaminase and alkaline phosphatase in serum and the mRNA relative expression level of TNF- $\alpha$  in liver of weaned piglets ( $P<0.05$ ). There was a higher intensity of immunopositive staining of TNF- $\alpha$  in blood sinus and among hepatic lobule of liver. The results suggested that dietary supplemented with *Illicium verum* and *Eucommia* leaf extracts can improve the growth performance of weaned piglets, and the ability of resist inflammation and oxidative stress of the liver is also observed.

Key words: *Illicium verum* extract; *Eucommia* leaf extract; weaned piglets; growth performance; serum enzyme

---

\*Corresponding author, professor, E-mail: shuzhen305@163.com

(责任编辑 武海龙)